

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 59-192084
 (43)Date of publication of application : 31.10.1984

(51)Int.Cl.

C12N 1/14
// C12Q 1/24

(21)Application number : 58-065227

(71)Applicant : TERUMO CORP

(22)Date of filing : 15.04.1983

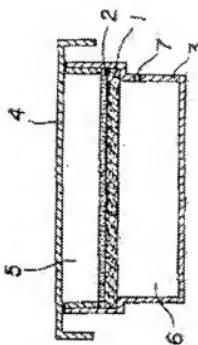
(72)Inventor : KAMINAGAYOSHI SATOSHI

(54) SEPARATED CULTIVATION OF MICROORGANISM IN BLOOD

(57)Abstract:

PURPOSE: To enable growth of colony in a short time by direct separated cultivation of microorganism in the blood without requiring operations such as enrichment culture, etc., by using a material obtained by attaching a filter not to pass microorganisms through to a dried absorbing substance having absorbed a liquid medium.

CONSTITUTION: A liquid medium is absorbed in an absorbing substance, and dried. The filter 2 not to pass microorganisms through is attached to the absorbing substance 1, the container 3 is provided with the filter with the absorbing substance to prepare a filter culture medium, a mixture of blood containing microorganisms, a hemolysis agent, and an anticoagulant is poured into the filter, filtered, the filtered microorganisms on the filter are cultivated by nutrition supplied from the absorbing substance. The medium is not preabsorbed in the absorbing substance, and the liquid medium together with the blood containing the microorganisms may be added to the filter. The absorbing substance preferably has absorption ability to absorb almost the whole amount of a specimen to be filtered, and a cellulose filter, nonwoven fabric, etc. are preferable as a material for it.



⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報 (A)

昭59—192084

◎Int. Cl.
C 12 N 1/14
E C 12 Q 1/24

識別記号 序内整理番号
6712-4B
8213-4B

⑫ 公開 昭和59年(1984)10月31日
発明の数 2
審査請求 未請求

(全 4 頁)

◎血中細菌の分離培養法

◎特 願 昭58-58227

◎出 願 昭58(1983)4月15日

◎発 明 命 上永吉憲

東京都渋谷区本町5丁目25番2

号 発出 願 人 テルモ株式会社

東京都渋谷区渋谷2丁目44番

1号

◎代 理 人 弁理士 西村公佑

明 講 章

1. 補助の必要

血中細菌の分離培養法

2. 特許請求の範囲

(1) 細菌注入血液を導血用および抗血凝凝固剤からなる溶媒と混合し、凝固物を、液体導液を含浸乾燥させた吸収体と該吸収体の上面に接着された細胞を通さない大きさの孔を有するフィルタとを容置し吸引してなるろ過培養器でろ過し、ろ過されたフィルタ上の細菌をそのまま培養することを特徴とする血中細菌の分離培養法。

(2) 細菌注入血液を導血剤、抗血凝凝固剤および液体導液からなる溶媒と混合し、凝固物を、吸収体と該吸収体の上面に接着された細胞を通さない大きさの孔を有するフィルタとを容置し吸引してなるろ過培養器でろ過し、ろ過されたフィルタ上の細菌をそのまま培養することを特徴とする血中細菌の分離培養法。

3. 説明の詳細な説明

1. 補助の背景

技術分野

本発明は、血液中の細菌を分離し、培養する方法に関するものである。

敗血症や菌血症等重複な全身感染症においては患者血中に細菌が存在しているので、これらが感染症の診断には血液の細菌検査が行なわれる。また抗凝剤の添加試験による病的状態においても血液の細菌検査が行なわれる。これらの検査検査には先ず検体血液から細菌を用意および分離することが必須であり、次いで菌の同定や菌の定量が行なわれる。本発明の方法はこのよう細菌検査に利用される。

(先行技術および問題点)

従来、血中細菌の検査および分離は、採取した血液を液体栄養細胞と混合して培養が増殖し充満するまで培養し、次に増殖した菌を深部石炭酸して血球凝固天平板、ツアニレート寒天平板等の培養面上に移種してさらに培養することによ

って肺膜じとのコロニー育成が行なわれている。

このように従来法においては血漿から少ないと
細菌を最も分離し得る事とされることが困難である。
コロニーを増殖する細胞群として増殖培養とい
う形態的操作で細胞を増殖することを必要とするた
め特殊な操作と時間が必要である。而して上記の
ような液体中での増殖培養は一般に1日ないし
2日目の実験室を要するし滅菌コロニー育成は
1日～2日を要していた。また血液はそれを体
液の増殖を抑制する作用を有し、抗凝剤が必要と
されている場合では血液中の菌の増殖は一層
困難であり、液体中の細胞数が少ないと場合には
検出不可能な場合もある。さらには細胞分離培養地
へ移入する際、菌種再配や培地への細胞投入の
手間もある。

2. 説明の目的

更って本発明の目的は、血中細菌の増殖培養等
の付加的操作を必要とせず、直接血液中の細
菌を含め、他の培地に分離移植することなくセ
のとき細菌を分離培養して短時間でコロニーを

育成することが可能な方法を提供することにある。

3. 発明の具体的説明

本発明は第1式、細胞導入血漿を培地附か
ずして直接細菌培養からなる装置と混合し、該混合
物を、液体培地を直接充満させた該水体と該液体
水体の上面に接觸された細菌を含まない大きさの
孔を有するフィルタとを容器に収容してなる
る過濾装置である。而後、ろ過されたフィルタ上の
細菌をそのまま培養することを特徴とする血中細
菌の分離培養法からなる。

本発明は第2式、細胞導入血漿を培地附、該
血漿表面および液体培地からなる溶液と混合し、
該混合物を、該水体と該液体の上面に帶
着された細菌を含まない大きさの孔を有するフ
ィルタとを容器に収容してなるろ過装置であ
る。而後、ろ過されたフィルタ上の細菌をそのまま
培養することを特徴とする血中細菌の分離培養
法からなる。

本発明の方法を実施するに際しては、先ず、

採取した細胞導入血漿を滅菌剤および血液凝
固剤からなる消毒液と混合する。この操作は、次
の溶解操作のための前段階であり、赤血球の崩
壊と病原の防止として行なわれる。使用
される消毒剤および抗凝固剤は特に細胞破
壊剤、それ自身公知のもののが用いられる。例
えば溶血剤としてはサボニンが経済的に使用され、
抗凝固剤としてはアミロイド酸ナトリウム、ボ
リウムトール酸ナトリウム等が使用される。

かくして消毒された血漿は、ろ過器容器で
ろ過され、ろ過された細菌は他の培地に移植す
ることなくそのままフィルタ上で培養される。

本操作で使用されるろ過器容器は、第1種れ
ばすなく、液体培地を直接充満させた該水体と
し、該液体水体の上面に接觸された細菌を含ま
ない大きさの孔を有するフィルタとを収容する
容器3および容器3の開口部を被覆する蓋4と
からなる。容器3には、フィルタ2の上方にろ
過液の基板を貯留する空間5が、該水体1の下
方にろ過液の直通する空間6もあわせて通気

孔7がそれぞれ設けられている。

該水体1は、ろ過する液体を直接採取す
る吸収管をもつことが望ましく、材質としては
セルロース系のろ紙、不織布等が適当である。
該水体1には液体培地が直接載置されている。該
液体培地としては、細菌の増殖培養用としてそれ
自身公知のものが使用される。本発明の方法に
おいては、培地を上記のように該水体に直接載
せる代りに、これを被覆した細胞附着および血
液凝固剤の容器に加えておくこともできる。

フィルタ2の孔径は細菌を個別的滅菌せない
ものとし、0.75ミクロン以下、好ましくは
0.45ミクロン程度にするのがよい。ノックド
の材質は血漿に對して不活性であれば特に制限
はないが、代表例としてセトロセル等、ポ
リカーボネート、ポリエチレン、セルロースエ
テルなどがあげることができる。而してのものとし
てはミリボア(「リボアコーゲーション器品」)
メトリセル(「セルランインクルマンドカソバ
ー器品」)などがあげられる。これらの中の

とは、自家のろ過が容易かのようにそれ自身会社の方法によって液体処理されているのが多ましい。フィルタと液体体との接觸は接觸剤により行うのがよく、接觸剤としてはナイロンなどの繊維素分体織維が好適である。

熱滅菌された血液をフィルタの上に注ぐとこれにより血液中の細胞はフィルタの上に沈降され、血漿は液体体に吸収され濁度の血液は空気筒中に静止する。ろ過により圧迫された空気は通気孔から外気へ放出される。吸収された血漿は液体体に含有されている増殖成分を溶解し、フィルタ上の細胞に養分を提供する。ろ過終了後、部品を漏斗装置を経て保つことにより血清中の細胞をフィルタ上で培養してコロニーを育成することができる。

かくして培養された細胞は、コロニーの検査、菌群鑑定、菌の同定、染色感受性試験等に供される。

次に実施例を示して本発明の方法をさらに詳しく説明する。

特許第59-182864(3)

実施例

フィルタとしてはガラスサイズ4.5 cm × 2.0 cmセラロース製メンブレンフィルタ(東洋ガラス社製)、液体体としてはセラロース製ガラスHO-63P(東洋ガラス社製)を用い、フィルタと液体の接觸は、低張点ナイロンをフィルタと液体体の間に介在させ熱接觸を行なった。フィルタと液体体の径は±0.9 mmであり、これを第1回めどとし作業する。実際には方法とその順序を行なった。すなむち、あらかじめ培地、抗凝固剤、帯血筋(計1.0 ml)を含んだ容器に血漿2.0 mlを分注し、これを計量器に分注し、培養を行なう方法と従来の液体培養で煩雑な5号(伊藤社製)、ペキシタイマー50(ED社製)との比較を行なった。結果を表1に示すが、*N. meningitidis*では従来の液体培養にて検出不可能であったが、本発明の方法では1日で検出可能であり、菌種鑑定も可能である。官能にコロニーとして分離されていることから直ちに同定試験、薬剤感受性試験が行なえる。また他の菌種についても

従来の液体培養よりすぐれていた。

表 1

菌名	1 日後		2 日後	
	増殖	液体	増殖	液体
<i>Neisseria meningitidis</i>	30%	22%	—	23%
<i>Candida albicans</i>	14	13	—	15
<i>Bacterioides fragilis</i>	15	14	+	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17	16	—	18
	6	8	—	3

表 1 質実験との比較

1…増殖 2…陰性

ii. 菌種の作用結果

培上部達したよう式、本発明の方法は、培養容器の前処理をするにとなく、液体培养中の細胞全量を容易分離しコロニーの育成培養する方

が従来法に比較して操作が簡便である。液体中のすべての菌を培養するので複数の菌が存在する場合の各々の菌の検出率も高い。また液体中の菌数をコロニー数より算定するととも可能である。

さもなくば本発明の方法ではフィルタ上で菌を培養培養と同時にコロニー育成をするので従来の液体培養培養に比較して培養時間がコロニー育成に必要な約1日と著しく短縮される。

4. 記載の簡単な説明

第1法は本発明の方法で使用されるる漏斗容器の新規法である。

1…液体体、2…フィルタ、3…容器、4…容器の蓋、5…通気孔

特許出願人 アルモ株式会社

代理人 牙博士 田村公



第 1 図

